

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international(43) Date de la publication internationale
30 juin 2005 (30.06.2005)

PCT

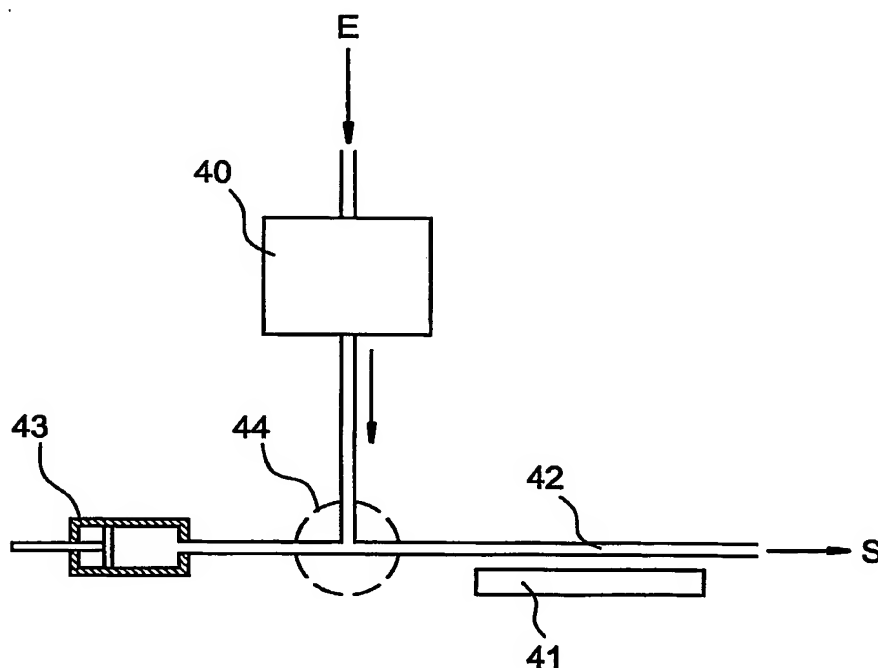
(10) Numéro de publication internationale
WO 2005/059519 A1

- (51) Classification internationale des brevets⁷ : G01N 1/00, 21/79
- (21) Numéro de la demande internationale : PCT/FR2004/050693
- (22) Date de dépôt international : 15 décembre 2004 (15.12.2004)
- (25) Langue de dépôt : français
- (26) Langue de publication : français
- (30) Données relatives à la priorité : 0351095 17 décembre 2003 (17.12.2003) FR
- (71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) : COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE [FR/FR]; 31-33, rue de la Fédération, F-75752 Paris 15ème (FR).
- (72) Inventeurs; et
- (75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : MAGNALDO, Alastair [FR/FR]; 325, chemin des Côtes, F-30330 Connaux (FR). DAVIN, Thierry [FR/FR]; 37 les Lavandins, F-84840 Lapalud (FR).
- (74) Mandataire : POULIN, Gérard; Brevatome, 3, rue du Docteur Lancereaux, F-75008 Paris (FR).
- (81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

[Suite sur la page suivante]

(54) Title: METHOD AND SYSTEM FOR ANALYSING A LIQUID SAMPLE

(54) Titre : PROCÉDE ET SYSTÈME D'ANALYSE D'UN ÉCHANTILLON LIQUIDE



(57) Abstract: The invention relates to a method for analysing a liquid sample by the injection thereof in a feedback loop which is coupled to lighting and detecting means consisting in filling a feedback loop (42), which forms a transparent tube to which detecting means is connected, with the minimum volume of an analysable sample, in injecting the fixed volume of at least one type of reagent into said feedback loop (42), detecting the level of a filtered light by means of said detecting means (41) and in removing the reagents contained in the feedback loop (42). A system for analysing a liquid sample is also disclosed.

(57) Abrégé : La présente invention concerne un procédé d'analyse d'un échantillon liquide par injection de celui-ci dans une boucle de réaction couplée à des

moyens d'éclairage et à des moyens de détection, qui comprend les étapes suivantes - remplissage d'une boucle de réaction (42) par un volume minimal de l'échantillon à analyser, cette boucle de réaction formant un tuyau transparent auquel sont couplés ces moyens de détection, - injection d'un volume fixe d'au moins un réactif dans la boucle de réaction (42), - détection de niveaux de lumière filtrée à l'aide des moyens de détection (41), - évacuation des réactifs situés dans la boucle de réaction (42). La présente invention concerne également un système d'analyse d'un échantillon liquide.



(84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasién (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

— avec rapport de recherche internationale

— avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

PROCEDE ET SYSTEME D'ANALYSE D'UN ECHANTILLON LIQUIDE**DESCRIPTION****DOMAINE TECHNIQUE**

5 L'invention concerne un procédé et un système d'analyse d'un échantillon liquide.

Le domaine d'application de cette invention est celui des méthodes d'analyse de liquides. Plus spécifiquement, l'invention s'applique à l'analyse automatisée de liquides en écoulement ou de liquides statiques (échantillons prélevés).

ETAT DE LA TECHNIQUE ANTERIEURE

L'analyse FIA (« Flow Injection Analysis »), ou analyse par injection d'analyte dans le flux liquide d'un porteur (ou fluide vecteur dans la suite), concerne une famille de techniques analytiques dont l'une est décrite dans le document référencé [1] en fin de description. Un premier principe commun à toutes les méthodes analytiques mises en œuvre en analyse FIA est la dispersion contrôlée d'un liquide dans un flux de liquide vecteur. La dispersion combine des effets de diffusion et des effets de dilution lors de l'écoulement dans un tuyau de petit diamètre.

25 Cette dispersion a lieu notamment lorsque une zone restreinte d'un liquide présent dans un tuyau à une concentration donnée est introduite dans un flux de liquide vecteur, grâce à la différence des vitesses d'écoulement entre les bords et le centre du tuyau. En même temps, la diffusion dilue les parties extrêmes de

la zone créant ainsi un gradient de concentration, surtout aux extrémités.

La compréhension des phénomènes de dispersion et des réactions chimiques qui s'y rajoutent est encore incomplète. Cependant, la plupart du temps, une compréhension poussée des phénomènes n'est pas nécessaire en vertu d'un second principe commun à toutes les méthodes analytique mises en œuvre en analyse FIA : la très bonne reproductibilité. En effet, avant la mise en œuvre de l'analyse FIA, il était souvent nécessaire d'obtenir, dans le procédé analytique, des réactions chimiques complètes afin d'atteindre des reproductibilités comparables. L'analyse FIA ne laisse souvent pas un délai suffisant à des réactions complètes, mais assure un temps de réaction identique et reproductible pour chaque analyse. Ainsi, chaque portion de l'échantillon subit des traitements différents, mais de façon reproductible entre les échantillons. Il s'agit d'une avancée significative dans l'analyse automatisée, notamment du fait de la réduction des temps d'analyse et l'allègement des interventions de l'utilisateur.

Les premières applications de l'analyse FIA utilisent un flux continu dans une seule direction : une zone de l'échantillon est injectée dans le flux continu d'un fluide vecteur. Au cours du temps, le flux continu crée le mélange permettant à la réaction du procédé analytique d'avoir lieu pour engendrer des espèces détectables. Comme illustré sur les figures la et lb, cette technique nécessite une pompe 10, une valve d'injection à deux voies 11, un détecteur en

ligne 12 et une boucle de réaction 13. Cette boucle 13 est constituée du tuyau séparant la valve d'injection 11 du détecteur 12. L'introduction de l'échantillon à analyser se fait par l'entrée E. S représente la sortie
5 des effluents. Le choix des caractéristiques de la boucle (dimensions et forme) dépend du procédé analytique considéré. Le volume mort du détecteur est suffisamment faible pour la résolution demandée. Les caractéristiques de l'écoulement doivent être
10 constantes et reproductibles. Ceci impose souvent un diamètre de tuyau constant. La fréquence analytique est imposée par les caractéristiques de la dispersion : elle est ainsi limitée afin d'éviter toute pollution entre échantillons successifs.

15 Les figures 1a et 1b représentent une séquence analytique typique. Dans un premier temps illustré sur la figure 1a, l'échantillon est passé dans une boucle d'injection jusqu'à ce que le contenu de la valve d'injection 11 soit représentatif de celui-ci.
20 Comme illustré sur la figure 1b, la valve d'injection 11 est ensuite commutée pour permettre l'injection du contenu de la valve dans le flux de réactif. L'échantillon est ensuite dispersé dans le tuyau 13 par le flux continu pour être détecté dans le détecteur 12
25 lors de son passage.

Les avantages de la technique d'analyse FIA par rapport aux techniques antérieures sont une plus forte fréquence analytique, une plus faible consommation d'échantillon et une très bonne
30 reproductibilité. Ses désavantages sont une plus grande consommation de réactifs, une plus grande consommation

de fluides vecteurs et une forte complexité des séquences pour des procédés nécessitant plusieurs étapes de traitement. Les réactifs supplémentaires nécessaires à la réaction chimique du procédé sont
5 introduits par des jonctions dans le flux de fluide vecteur. Chaque réactif doit ainsi être introduit par une dérivation, et possède donc un élément de pompage qui lui est propre.

L'analyse FIA telle que décrite ci-dessus
10 est largement utilisée en analyse automatisée et contribue à la grande majorité des publications dans le domaine. Une des avancées issue de la technique de l'analyse FIA est l'analyse par injection séquentielle.

L'analyse par injection séquentielle ou
15 analyse SIA (« sequential injection analysis ») et l'analyse FIA ont en commun le principe de dispersion et le maniement des fluides de façon reproductible. L'analyse SIA apporte, en plus, une utilisation d'un flux bidirectionnel et des périodes d'arrêt du fluide.
20 En outre, la valve à deux positions de l'analyse FIA est remplacée par une valve multidirectionnelle. L'analyse SIA peut ainsi analyser des solutions en utilisant des procédés chimiques plus compliqués, tout en conservant des composants technologiques
25 relativement fiables.

Les figures 2a à 2c, qui illustrent un système classique d'analyse SIA, représentent une valve multidirectionnelle 20, une boucle de mélange 21, et un détecteur 22, une boucle de rétention 23 et une pompe
30 bidirectionnelle 24.

En général l'analyse est effectuée en trois

séquences. La première séquence est le remplissage du système par une solution vecteur, par exemple de l'eau désionisée. L'objet de cette séquence est de pourvoir le système d'un vecteur inerte capable de transporter, y compris lors des inversions de flux, les zones de l'échantillon à analyser. La seconde séquence, comme illustrée sur les figures 2a et 2b, est l'aspiration alternée de zones d'échantillon, et du (des) réactif(s) nécessaire(s) R pour le procédé analytique sous la forme d'un train de zones, le tout étant disposé dans la boucle de rétention 23. La troisième séquence, comme illustrée sur la figure 2c, est la dispersion de ce train de zones dans la boucle de mélange 21 suivi du passage devant le détecteur 22. La formation d'un train de zones d'échantillon et de réactifs ne nécessite l'emploi que d'une seule pompe 24, contrairement au cas général de l'analyse FIA. Cependant, elle doit intégrer des contraintes supplémentaires liées au flux bidirectionnel.

Les avantages de l'analyse SIA par rapport à l'analyse FIA sont les suivants : un nombre plus restreint de composantes technologiques permettant l'application de procédés plus compliqués, une plus grande flexibilité apportée par la possibilité d'inversion du flux et une plus grande facilité d'optimisation sans nécessiter de recâblage. Cependant les volumes nécessaires, notamment en fluide vecteur, sont importants : typiquement 10 à 100 fois plus importants que les volumes de réactifs.

Plus récemment, une possibilité d'analyse séquentielle sans solution vecteur a été proposée,

l'analyse par CSIA. (« carrier-less sequential injection analysis » ou « analyse par injection séquentielle sans porteur »). L'analyse CSIA, décrite par exemple dans le document référencé [2], inclut les avantages de l'analyse SIA, dont le faible nombre de composantes technologiques, et évite les désavantages potentiels de l'utilisation d'un fluide vecteur qui sont, entre autres, un volume d'effluent analytique élevé lié au facteur de multiplication entre les volumes de réactifs et de solution vecteur.

Un système classique d'analyse CSIA se présente de façon analogue au système illustré sur les figures 2a à 2c. Cependant la séquence analytique est différente. Elle est, en général, effectuée selon les étapes suivantes : la boucle de rétention 23 est remplie d'analyte par aspiration par la pompe 24. Une portion de l'analyte est refoulée en direction de la boucle de mélange 21 et du détecteur 22. L'aspiration de l'analyte est complétée. Ensuite, les réactifs sont aspirés par basculement de la vanne multivoies 20. Un nouveau basculement de cette vanne 20 permet à la pompe 24 de refouler le réactif et l'analyte successivement dans la boucle de mélange 21 et le détecteur 22.

Par rapport à l'analyse SIA, l'élimination du fluide vecteur a pour conséquence l'utilisation d'un volume plus important d'analyte et une rétention dans une boucle suffisamment volumineuse.

La mise en œuvre de méthodes analytiques de titrage (ou analyses volumétriques) par ces techniques de dispersion contrôlée nécessite l'emploi de composants techniques additionnels. Comme illustré sur

la figure 3a, une solution technique consiste à utiliser une chambre de mélange 30, située entre la zone d'injection 31 et le détecteur 32, la pompe étant référencée 33. Lorsqu'un constituant est ajouté à un autre déjà présent dans la chambre de mélange 30, un gradient de concentration permettant le titrage est obtenu à la sortie de cette chambre 30, avant le passage devant le détecteur 32. Une autre solution consiste à utiliser deux pompes à débits variables de façon suffisamment précise : une pompe délivrant l'analyte, l'autre le titrant. Une boucle de réaction réalise un mélange partiel ou complet des solutions avant le passage devant une cellule de mesure en ligne. Le titrage s'effectue ensuite par l'établissement d'un gradient: le débit (ou la concentration) du titrant (ou de l'analyte) varie de façon continue dans le temps, d'autres propriétés du mélange étant maintenues constantes. Une telle solution, nécessitant des mesures individuelles successives, est consommatrice de temps. Le grand nombre de mesures individuelles n'en fait pas réellement une méthode continue.

Certaines solutions décrivent des techniques de titrage en continu par injection du titrant à des endroits géométriques définis le long d'un capillaire, dans lequel circule en permanence l'analyte. Comme décrit dans le document référencé [3] et comme illustré sur la figure 3b, l'analyte circulant dans un capillaire entrant en E, reçoit à chaque lieu d'injection un débit de titrant T. Après chaque ajout consécutif et après sa réaction chimique complète, l'état du mélange est mesuré par un détecteur 35. Les

ajouts consécutifs sont poursuivis jusqu'à l'épuisement de l'analyte. Une pré-dilution est nécessaire afin d'améliorer la précision.

Les volumes de l'analyte et des effluents
5 liquides peuvent être d'une grande importance, notamment dans le cas de prélèvements pouvant présenter des risques pour l'homme comme les solutions radioactives ou biologiques. Plus généralement, ceci peut être le cas de solutions liquides à analyser
10 issues d'un pré-traitement, par exemple d'une concentration, d'une séparation ou de toutes opérations chimiques ne pouvant être réalisées à plus grande échelle. Ceci peut être également le cas de solutions de toutes sortes issues de dispositifs sub-
15 millimétriques dont des puces microfluidiques.

Pour résumer, souvent les systèmes analytiques par analyse FIA ne peuvent être utilisés à cause de leur grande consommation de liquide vecteur et de réactif. Les systèmes analytiques par analyse SIA et
20 CSIA ne peuvent être utilisés non seulement à cause de leur grande consommation de fluides en général mais aussi à cause de l'importance des volumes et longueurs des boucles de rétention et réaction, difficilement compatibles avec les contraintes exigées par la plupart
25 des méthodes de fabrication des circuits miniaturisés.

De plus les systèmes analytiques par analyse FIA, SIA ou CSIA nécessitent l'utilisation de vannes, ce qui est pénalisant lorsque l'on cherche à miniaturiser l'analyse. En effet, l'installation de
30 vannes dans des circuits micro-fluidiques nécessite une étape technologique supplémentaire non-triviale. Les

analyses SIA et CSIA nécessitent l'emploi d'une pompe bi-directionnelle, qui peut poser certains soucis, notamment de dégazage entraînant la formation de bulles de gaz, perturbant grandement la reproductibilité des analyses surtout lorsque l'on cherche à réaliser une miniaturisation. Les analyses FIA, SIA et CSIA nécessitent l'injection d'un échantillon de façon reproductible, notamment en ce qui concerne son volume, ce qui est source de dérives analytiques.

Enfin, lorsque le procédé analytique nécessite des titrages, l'adjonction d'une chambre de mélange est généralement incompatible avec l'objectif fixé de miniaturisation.

L'objet de l'invention est d'apporter une solution technique aux problèmes soulevés ci-dessus, en proposant un procédé analytique automatisable amélioré par l'utilisation de moins de volume de réactifs et d'analyte, en l'absence de fluide vecteur, permettant d'effectuer des analyses volumétriques, notamment sur un flux continu, le tout sur des longueurs et dans des volumes compatibles avec les techniques de fabrication de circuits fluidiques miniaturisés.

EXPOSÉ DE L'INVENTION

L'invention concerne un procédé d'analyse d'un échantillon liquide par injection de celui-ci dans une boucle de réaction couplée à des moyens d'éclairage et à des moyens de détection, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes suivantes :

- remplissage d'une boucle de réaction par un volume minimal de l'échantillon à analyser, cette

boucle de réaction formant un tuyau transparent auquel sont couplés ces moyens de détection,

- injection d'un volume fixe d'au moins un réactif dans la boucle de réaction,

5 - détection par exemple de niveaux de lumière filtrée à l'aide de ces moyens de détection,

- évacuation des réactifs situés dans la boucle de réaction.

Avantageusement on détecte un gradient de
10 concentration dans la boucle de réaction. La boucle de réaction peut être un capillaire transparent ou un canal microfluidique. L'évacuation des réactifs situés dans la boucle de réaction peut être effectuée à l'aide de l'échantillon restant. Elle peut, également être
15 effectuée à l'aide de l'échantillon suivant.

Avantageusement le flux d'échantillon n'est pas interrompu ce qui permet une analyse en continu. On peut injecter successivement des volumes fixes de réactifs pendant des intervalles de temps pré-définis.
20 On peut ainsi réaliser une série de poussées de réactif à des débits de l'ordre de 10 à 1000 $\mu\text{L}.\text{min}^{-1}$ suivis d'un temps d'attente. On peut réaliser une détection linéaire le long de la boucle de réaction ce qui permet d'obtenir un relevé spatial et temporel des réactions
25 dans l'ensemble boucle de réaction + moyens de détection. On peut également réaliser une détection ponctuelle en un endroit de la boucle de réaction ce qui permet d'obtenir un relevé temporel des réactions en un endroit de l'ensemble boucle de réaction + moyens
30 de détection. Dans ce cas on peut utiliser un capteur

ponctuel apte à se déplacer le long de la boucle de réaction.

L'invention concerne également un système d'analyse d'un échantillon liquide comprenant une boucle de réaction entre cet échantillon introduit par une entrée E et au moins un réactif, et des moyens de détection, caractérisé en ce que la boucle de réaction est constituée d'un tuyau transparent, et en ce que ledit système comprend un pousse-seringue dont la sortie est reliée à la boucle de réaction permettant de délivrer dans cette boucle des doses de cet au moins un réactif, et des moyens d'éclairage permettant d'éclairer cette boucle de réaction de manière à ce que les moyens de détection enregistrent des niveaux de lumière transmise par ladite boucle après filtrage.

Le tuyau transparent peut être un capillaire transparent ou un canal micro-fluidique. Les moyens de détection peuvent comprendre une barrette de diodes ou deux fibres optiques disposées de part et d'autre de la boucle de réaction. Avantageusement une pompe péristaltique permet l'introduction de l'échantillon. Avantageusement une micro-vanne peut être disposée en amont de l'introduction de l'échantillon dans la boucle de réaction. Un embranchement en forme de T est relié respectivement à l'entrée E d'échantillon, au pousse-seringue, et à la boucle de réaction.

Avantageusement l'invention décrit une technique d'analyse qui ne nécessite ni fluide vecteur, ni de boucle de rétention, ni forcément une vanne, ni forcément une pompe bidirectionnelle. La boucle de réaction est également réduite en volume. Ce procédé ne

nécessite pas de connaître ou de mesurer le volume de l'échantillon. Son débit est également sans conséquence sur la mesure: l'échantillon peut être introduit au coup par coup de façon aléatoire en débit, en continu
5 et/ou de façon gravitaire ou par capillarité. Ce procédé permet également un titrage de solution en continu et en ligne, mais aussi de façon discontinue, avec une injection de réactifs à un seul débit.

Lors d'une analyse, l'échantillon peut être
10 introduit directement dans le dispositif, par une pompe ou un écoulement gravitaire. Il n'est besoin ni de connaître le volume de l'échantillon, ni de contrôler rigoureusement sa vitesse d'écoulement. La boucle de réaction et la zone de détection peuvent ainsi être des
15 zones d'écoulement continu de l'analyte. Lorsque l'on désire procéder à une analyse, le flux d'analyte peut éventuellement être arrêté par une vanne simple. Le volume fixe de réactif, parfaitement contrôlé, peut être introduit à une vitesse donnée de telle sorte
20 qu'un gradient de concentration du réactif dans l'analyte est établi. Un temps d'attente est souvent souhaitable afin que la diffusion homogénéise au moins partiellement la solution selon la section du canal. Il est possible d'injecter de cette façon, suivant des
25 chronologies et volumes bien établis, l'un après l'autre, d'autres réactifs ou de nouveau le réactif initial, ce qui permet de présenter au niveau du détecteur non seulement un mélange reproductible des différents réactifs, mais des gradients de mélange de
30 l'analyte dans les réactifs. Il est aussi possible par activation précise de la pompe à des débits faibles, de

faire passer devant un détecteur ponctuel, de façon continue dans le temps, le gradient de mélange établi dans la boucle de réaction. Le résultat peut être alors exprimé par le laps de temps nécessaire pour que le

5 détecteur fournisse une valeur fixée à l'avance. L'ensemble de détecteurs en ligne peut être, par exemple, un ensemble de conductimètres, potentiomètres ou un capteur CCD linéaire, qui fournissent par exemple une position correspondant à la détection d'un niveau

10 donné d'un paramètre, par exemple celle correspondant à la neutralisation d'un acide par une base, ce qui permet d'obtenir, par un calibrage préalable à la teneur d'un élément à analyser. Le capteur ponctuel peut aussi être mobile le long de la boucle de

15 réaction, par exemple un ensemble de fibres optiques montées sur un moteur pas à pas.

BRÈVE DESCRIPTION DES DESSINS

Les figures 1a et 1b illustrent une

20 technique analytique typique par analyse FIA.

Les figures 2a à 2c illustrent une technique analytique typique par analyse SIA.

La figure 3a illustre une technique analytique permettant un titrage par obtention, dans le

25 temps, d'un gradient de concentration.

La figure 3b illustre une technique analytique permettant un titrage continu.

Les figures 4a et 4b illustrent un premier exemple de mise en œuvre du procédé de l'invention.

30 Les figures 5a et 5b illustrent un second exemple de mise en œuvre du procédé de l'invention.

La figure 6a illustre une réponse typique d'une barrette à diodes lors d'un dosage suivant la technique décrite dans le second exemple.

5 La figure 6b illustre une courbe typique obtenue par la technique décrite dans le second exemple, représentant la position du virement de couleur du colorant en fonction de l'acidité sans charge de l'analyte.

10 Les figures 7a et 7b illustrent un troisième exemple de mise en œuvre du procédé de l'invention.

EXPOSÉ DÉTAILLÉ DE MODES DE RÉALISATION PARTICULIERS

15 Comme illustré par exemple sur la figure 4a, la présente invention concerne un système d'analyse d'un échantillon liquide comprenant une boucle de réaction 42, qui est constituée d'un tuyau transparent, par exemple un capillaire transparent ou d'un canal micro-fluidique, entre cet échantillon entré en E et au
20 moins un réactif. Un pousse-seringue 43, dont la sortie est reliée à la boucle de réaction 42, permet de délivrer des doses de cet au moins un réactif dans la boucle de réaction. Un embranchement 44 en forme de « T » permet l'introduction de l'échantillon et du (ou
25 des) réactif(s) dans la boucle de réaction 42. Des moyens d'éclairage, par exemple une diode électroluminescente, permettent d'éclairer la boucle de réaction 42 de manière à ce que des moyens de détection 41, par exemple une barrette de diodes, enregistrent
30 des niveaux de lumière transmise par ladite boucle après filtrage, ces niveaux étant représentatifs de

caractéristiques de l'échantillon mises en évidence par le mélange de celui-ci avec le (ou les) réactif(s).

Le procédé de l'invention comprend les étapes suivantes :

- 5 - remplissage de la boucle de réaction 42 par un volume minimal de l'échantillon à analyser,
- injection d'un volume fixe d'au moins un réactif dans la boucle de réaction 42,
- détection de niveaux de lumière filtrée à
10 l'aide des moyens de détection 41,
- évacuation des réactifs situés dans la boucle de réaction 42.

On va, à présent, étudier trois exemples de
15 réalisations selon l'invention.

Premier exemple : dosage acido-basique

Dans ce premier exemple, comme illustré sur les figures 4a et 4b, l'échantillon est introduit par
20 une pompe péristaltique 40. Le détecteur 41 est une barrette à diodes alignée sur la boucle à réaction 42, qui est dans cet exemple un capillaire transparent, mais peut être aussi un canal microfluidique. Un colorant, le bleu de bromothymol (BBT) est dilué dans une base
25 (NaOH) contenue dans la seringue d'un pousse-seringue 43.

Le pousse-seringue 43, muni d'une seringue de typiquement 100 à 500 μL , est capable de délivrer des doses de l'ordre de 1 μL de façon suffisamment
30 précise. La seringue est couplée en sortie au capillaire 42. L'échantillon issu de la pompe

péristaltique 40 rencontre en un embranchement en forme de T 44 le capillaire 42 fixé en sortie du pousse-seringue 43. Cet embranchement 44 est réalisé par les techniques de fabrication microfluidiques. Le
5 capillaire 42 en sortie de l'embranchement T 44, constituant la boucle de réaction des méthodes analytiques FIA et SIA, possède un diamètre intérieur de 100 à 500 μm . Sa longueur est de 0,5 à 10cm.

La barrette à diodes 41 est éclairée par un
10 une diode électro-luminescente, non représentée sur les figures 4a et 4b. Un filtre, non représenté, permet de distinguer clairement la coloration bleue du BBT en milieu plus basique de sa coloration jaune en milieu plus acide.

15 L'échantillon, dont le débit est quelconque, est entré en E et circule à travers l'embranchement 44, le capillaire 42 jusqu'à la sortie S. Le débit d'échantillon, issu d'un procédé chimique en aval de la zone de prélèvement, est de 0,5 $\mu\text{L}.\text{min}^{-1}$.
20 Au moment où l'on désire obtenir un dosage de l'acidité, le pousse-seringue 43 est activé à un débit de l'ordre de 10 à 1000 $\mu\text{L}.\text{min}^{-1}$, délivrant une quantité variable mais répétable de colorant, typiquement de l'ordre de 0,5 à 10 μL . Il s'établit ainsi un gradient
25 de concentration dans le capillaire 42 établissant une zone à coloration bleue plus basique, et une zone à coloration jaune plus acide. La barrette à diodes 41 enregistre les niveaux de lumière filtrée donnant ainsi des renseignements sur la portion de capillaire 42 en
30 face de chaque diode pour un temps donné après l'arrêt du mouvement du pousse-seringue 43. Le flux

d'échantillon peut être arrêté ou non pendant l'analyse. Dans cet exemple celui-ci est maintenu. Les mesures issues de la barrette 41 le long du capillaire 42, sont suivies dans le temps. Après un étalonnage de la réponse pour chaque élément, il est possible de
5 donner une valeur de l'acidité de l'échantillon.

Les réactifs situés dans le capillaire 42 sont ensuite évacués par l'écoulement de l'échantillon. Un volume d'échantillon suffisant, typiquement 5 μ L ou
10 plusieurs fois le volume de la boucle de réaction 42, est nécessaire afin d'éviter un croisement trop important entre deux séquences analytiques de mesure.

Second exemple : dosage de l'acidité libre dans un milieu chargé
15

Dans cet exemple, comme illustré sur les figures 5a et 5b, la méthode analytique utilisée est celle du dosage de solutions chargées par la méthode à l'oxalate.

20 L'écoulement de la solution d'échantillon se fait de manière gravitaire et capillaire. Un échantillon de quelques dizaines de microlitres est présenté à l'embouchure E d'un capillaire 50 en amont d'une vanne 51 à l'aide d'un entonnoir ou de tout autre
25 dispositif permettant le remplissage correct par capillarité et/ou gravitaire sur un faible volume. Le volume du capillaire 50 en amont de la vanne 51 est d'environ 10 fois supérieur à celui de la boucle de réaction 52. La vanne 51, de préférence une micro-
30 vanne, dont le volume mort est très inférieur au volume de l'échantillon situé en amont d'un embranchement en

forme de T 53, permet d'arrêter l'écoulement de l'échantillon ou l'écoulement d'air lorsque l'échantillon est épuisé en amont de la vanne 51. La configuration des autres éléments est identique au premier exemple décrit ci-dessus, si ce n'est l'adaptation des filtres utilisés au colorant considéré. Les réactifs sont de la soude, un colorant virant vers pH 5,5 et un complexant, l'oxalate. Ce procédé se distingue de l'exemple précédent par la présence de plusieurs réactifs et par le fait que l'échantillon doit être dilué dans le réactif d'un facteur compris entre 20 et 500, afin de permettre la complexation suffisante de la charge.

Le débit de l'échantillon à travers l'embranchement 53, le capillaire 52 et le détecteur 54 est quelconque. Il peut être discontinu. Il est fixé par la configuration de l'ensemble.

Au moment où l'on désire effectuer le dosage de l'acidité libre, la vanne 51 est fermée pour éviter toute remontée de réactifs. Une première poussée du pousse-seringue 55, activé à un débit de 10 à 1000 $\mu\text{L}.\text{min}^{-1}$, délivre une quantité fixée à l'avance et répétable, typiquement de l'ordre de 0,5 à 10 μL . Un certain moment d'attente est nécessaire, typiquement de l'ordre de 10 secondes, afin d'homogénéiser très partiellement le mélange en fonction de la section du capillaire 52. Une seconde poussée identique de réactifs dilue de nouveau l'échantillon. D'autres combinaisons poussée/temps d'attente peuvent avoir lieu ensuite pour tenir compte des acidités à analyser. Comme dans le premier exemple, un gradient de

concentration est établi le long du capillaire 52. Son suivi dans le temps permet de calculer la valeur de l'acidité. La figure 6a représente un relevé typique de valeurs mesurées sur la barrette à diodes en fonction de la position de la diode dans la barrette 54 et donc sur le capillaire 52. La figure 6b représente une courbe de réponse typique de la position du point de virage de la coloration dans le capillaire 52 en fonction de l'acidité de l'analyte, en tenant compte de la dispersion des résultats sur 10 mesures faites dans un intervalle de temps de une semaine entre la première mesure et la dernière mesure.

Les réactifs situés dans le capillaire 52 sont ensuite évacués par l'écoulement de l'échantillon restant, par l'écoulement des bulles de gaz séparant les échantillons et par l'écoulement d'une portion de l'échantillon suivant. Le volume total de réactifs et échantillon consommé est de l'ordre de 3 à 15 μL .

Troisième exemple : dosage d'une espèce réagissant à un colorant spécifique, par exemple l'hydrazine en solution nitrique

Cet exemple, comme illustré sur les figures 7a et 7b, décrit le dosage de l'hydrazine en milieu nitrique par le DMAB (diméthylaminobenzaldéhyde) de manière à mesurer des concentrations en hydrazine en solution acide sur trois décades de l'ordre de 0,001 à 1 M. Cet exemple peut également être utilisé pour le dosages d'une espèce en solution par un réactif lorsque des dilutions de l'ordre de 10 à 10000 sont nécessaires.

L'échantillon d'hydrazine est introduit par une pompe péristaltique 60 avec un débit de $100 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$. Une vanne 61 est nécessaire pour isoler la partie en amont de celle-ci 61 de l'embranchement en forme de T 67, relié d'une part au pousse-seringue 63 et d'autre part au capillaire 66. En effet, en l'absence d'une telle vanne 60, lors d'une l'introduction de réactif, la tuyauterie souple 62 pourrait se dilater sous les à coups de pression délivrés par le pousse-seringue 63. Cet effet se traduirait par une moins bonne reproductibilité des mesures pour des intervalles de temps supérieurs à une journée. Le détecteur est un capteur ponctuel, constitué de deux fibres optiques 64 et 65 en regard à travers le capillaire 66, reliées à un spectrophotomètre et une source de lumière. Le réactif est une solution de DMAB à environ 0,1 M dans de l'acide nitrique 0,5 M.

Lorsque l'on souhaite effectuer une analyse, la pompe péristaltique 60 est arrêtée, et la vanne 61 fermée. Comme dans le second exemple, on effectue, à l'aide du pousse-seringue 63, une série de poussées du réactif à des débits de l'ordre de 10 à $1000 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ suivis d'un temps d'attente. Une mesure par spectrophotométrie permet de contrôler l'absorbance afin de décider si une nouvelle poussée de réactifs est nécessaire. Une fois le nombre de poussées nécessaire obtenu, l'absorbance en un point du capillaire 66 est mesurée en fonction temps écoulé depuis l'arrêt de la dernière poussée. Un calibrage préalable permet de donner une valeur de la concentration en hydrazine.

REFERENCES

- [1] US 4 315 754
- [2] US 5 849 592
- 5 [3] US 2003/032195

REVENDICATIONS

1. Procédé d'analyse d'un échantillon liquide par injection de celui-ci dans une boucle de réaction couplée à des moyens d'éclairage et à des moyens de détection, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes suivantes :
- remplissage d'une boucle de réaction (42) par un volume minimal de l'échantillon à analyser, cette boucle de réaction formant un tuyau transparent auquel sont couplés ces moyens de détection,
 - injection d'un volume fixe d'au moins un réactif dans la boucle de réaction (42),
 - détection de niveaux de lumière filtrée à l'aide de ces moyens de détection (41),
 - évacuation des réactifs situés dans la boucle de réaction (42).
2. Procédé selon la revendication 1, dans lequel on détecte un gradient de concentration dans la boucle de réaction (42).
3. Procédé selon la revendication 1, dans lequel la boucle de réaction (42) est un capillaire transparent ou un canal microfluidique.
4. Procédé selon la revendication 1, dans lequel l'évacuation des réactifs situés dans la boucle de réaction (42) est effectuée à l'aide de l'échantillon restant.

5. Procédé selon la revendication 1, dans lequel l'évacuation des réactifs situés dans la boucle de réaction (42) est effectuée à l'aide de l'échantillon suivant.

5

6. Procédé selon la revendication 1, dans lequel le flux d'échantillon n'est pas interrompu ce qui permet une analyse en continu.

10

7. Procédé selon la revendication 1, dans lequel on injecte successivement des volumes fixes de réactifs pendant des intervalles de temps pré-définis.

8. Procédé selon la revendication 7, dans lequel on réalise une série de poussées de réactif à des débits de l'ordre de 10 à 1000 $\mu\text{L}.\text{min}^{-1}$ suivis d'un temps d'attente.

9. Procédé selon la revendication 1, dans lequel on réalise une détection linéaire le long de la boucle de réaction (42) ce qui permet d'obtenir un relevé spatial et temporel des réactions dans l'ensemble boucle de réaction + moyens de détection.

25

10. Procédé selon la revendication 1, dans lequel on réalise une détection ponctuelle en un endroit de la boucle de réaction (42) ce qui permet d'obtenir un relevé temporel des réactions en un endroit de l'ensemble boucle de réaction + moyens de

30

détection.

11. Procédé selon la revendication 10, dans lequel on utilise un capteur ponctuel apte à se déplacer le long de la boucle de réaction.

5 12. Système d'analyse d'un échantillon liquide comprenant une boucle de réaction entre cet échantillon introduit par une entrée (E) et au moins un réactif, et des moyens de détection, caractérisé en ce que la boucle de réaction est constituée d'un tuyau
10 transparent (42 ; 52 ; 66), et en ce que ledit système comprend un pousse-seringue (43 ; 55 ; 63) dont la sortie est reliée à la boucle de réaction permettant de délivrer dans cette boucle des doses de cet au moins un réactif, et des moyens d'éclairage permettant
15 d'éclairer cette boucle de réaction de manière à ce que les moyens de détection enregistrent des niveaux de lumière transmise par ladite boucle après filtrage.

13. Système selon la revendication 12, dans
20 laquelle le tuyau transparent est un capillaire transparent ou un canal micro-fluidique.

14. Système selon la revendication 12, dans lequel les moyens de détection comprennent une barrette
25 de diodes (41 ; 54).

15. Système selon la revendication 12, dans lequel les moyens de détection comprennent deux fibres optiques (64 ; 65) disposées de part et d'autre de la
30 boucle de réaction.

16. Système selon la revendication 12 comprenant une pompe péristaltique (40 ; 60) permettant l'introduction de l'échantillon.

5 17. Système selon la revendication 12 comprenant une micro-vanne (51 ; 61) disposée en amont de l'introduction de l'échantillon dans la boucle de réaction.

10 18. Système selon la revendication 12, dans un lequel un embranchement en forme de T est relié respectivement à l'entrée (E) d'échantillon, au pousse-seringue (43 ; 55 ; 63) et à la boucle de réaction (42 ; 52 ; 66).

1 / 7

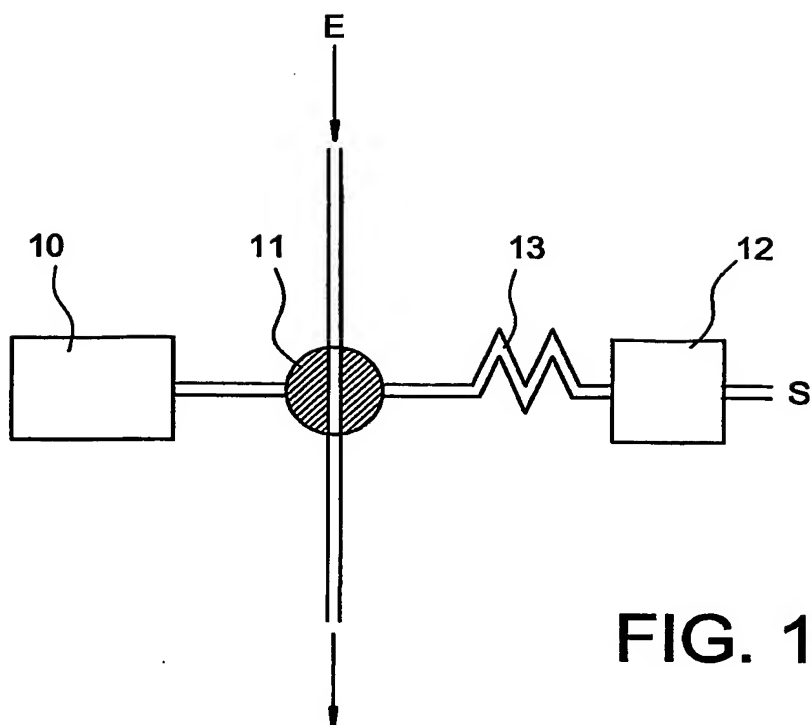


FIG. 1a

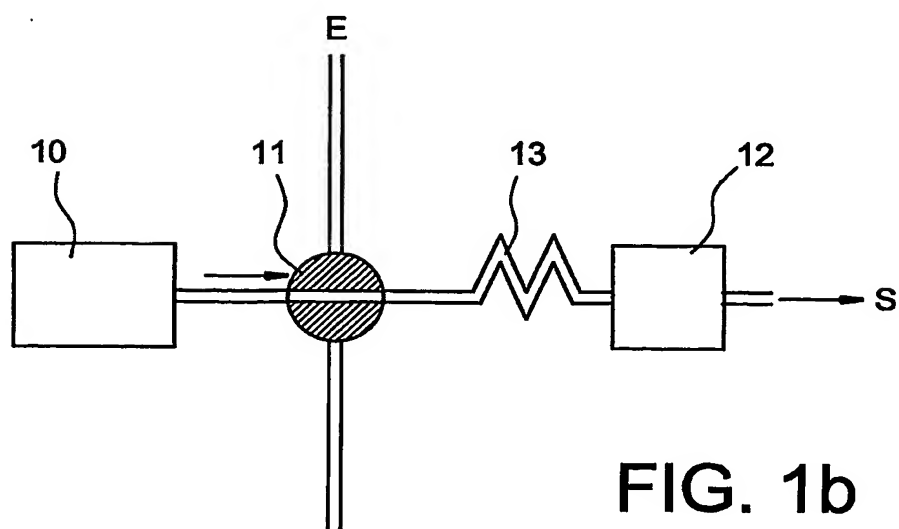


FIG. 1b

2 / 7

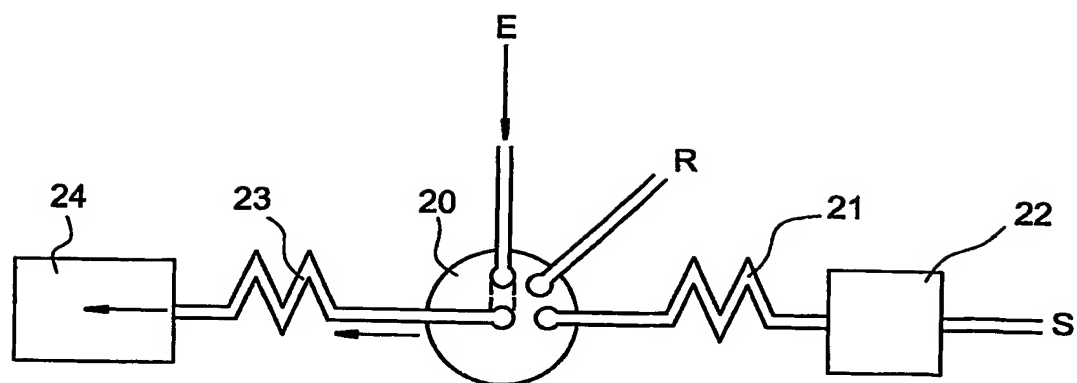


FIG. 2a

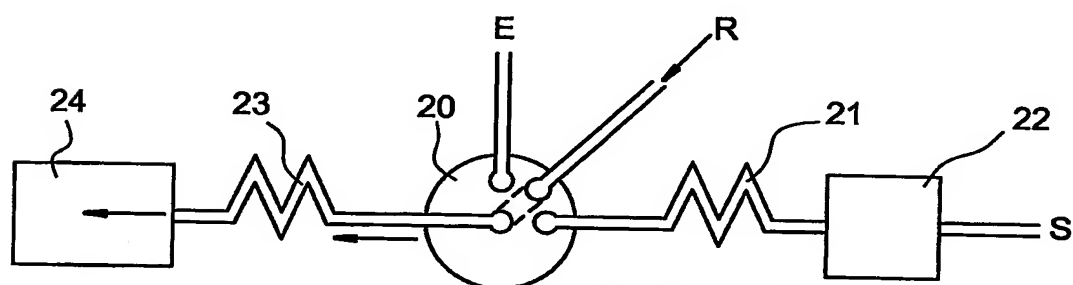


FIG. 2b

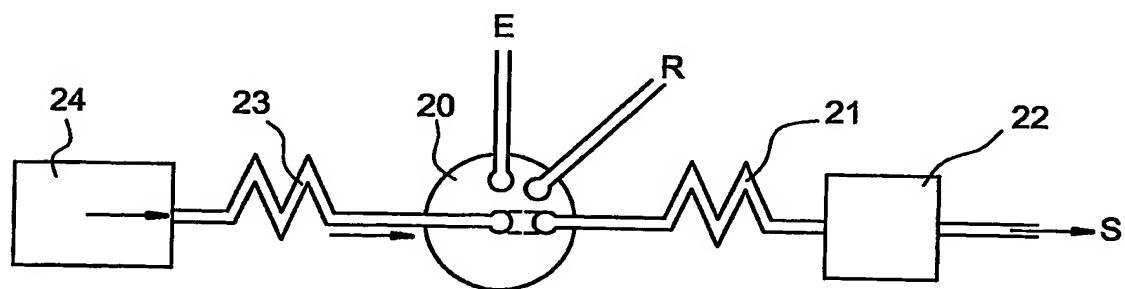


FIG. 2c

3 / 7

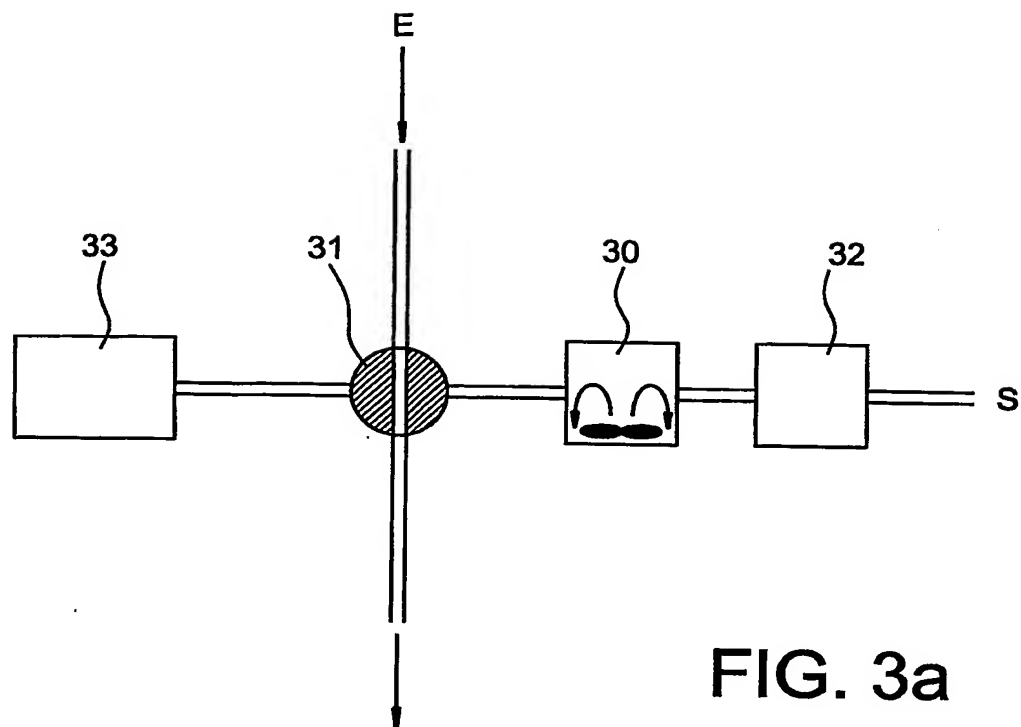


FIG. 3a

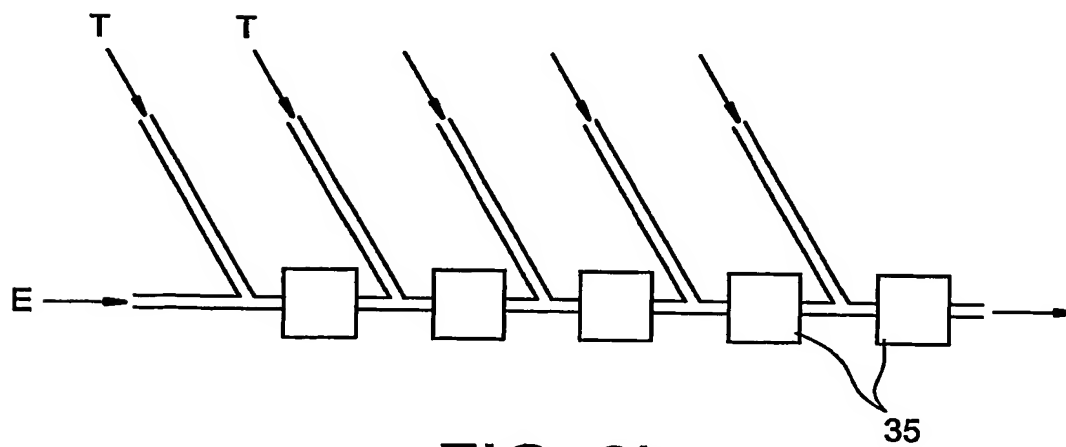
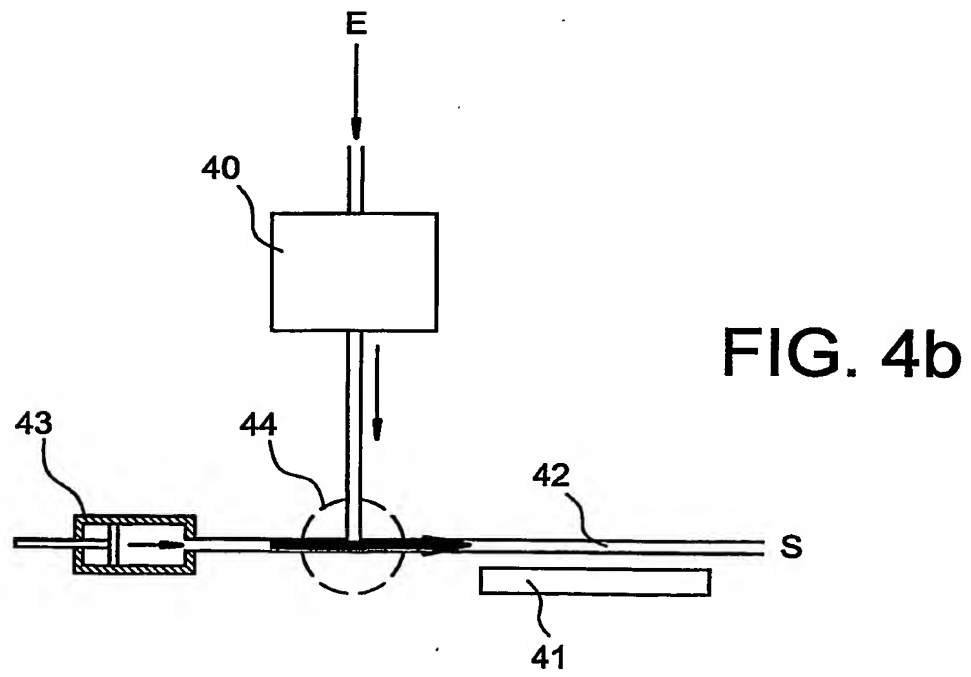
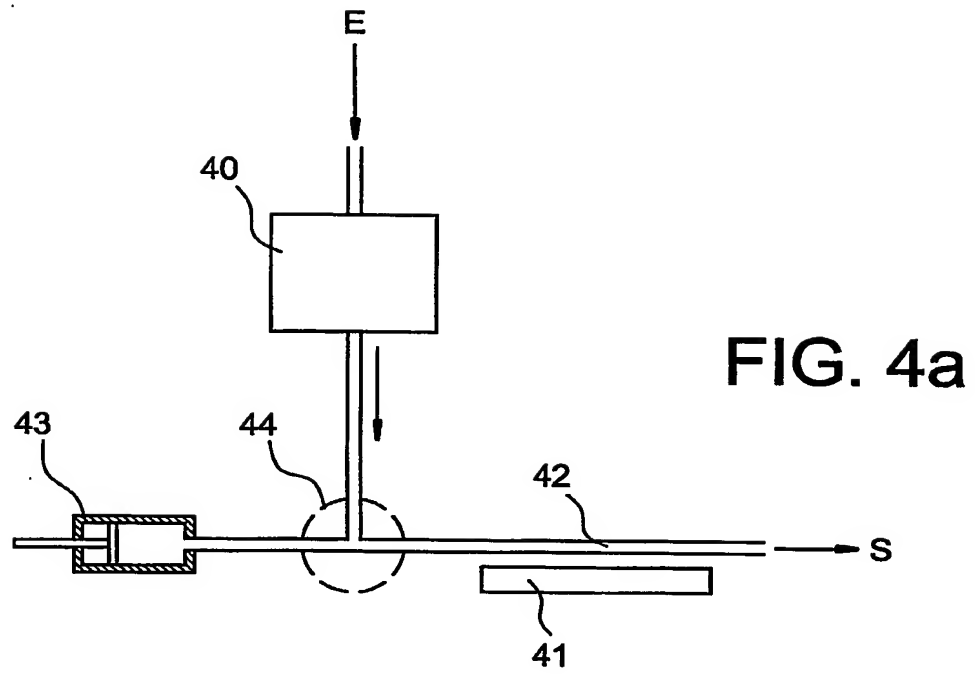
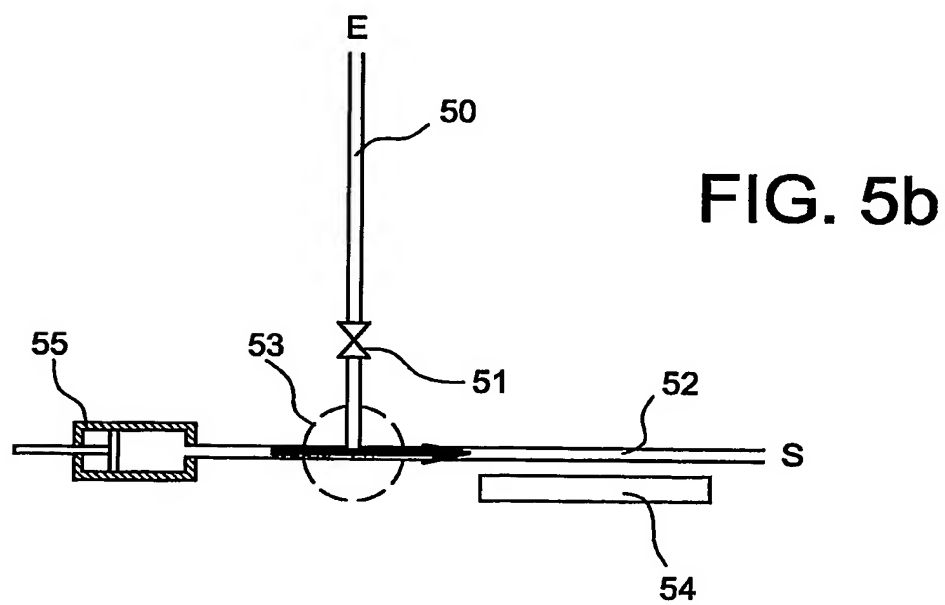
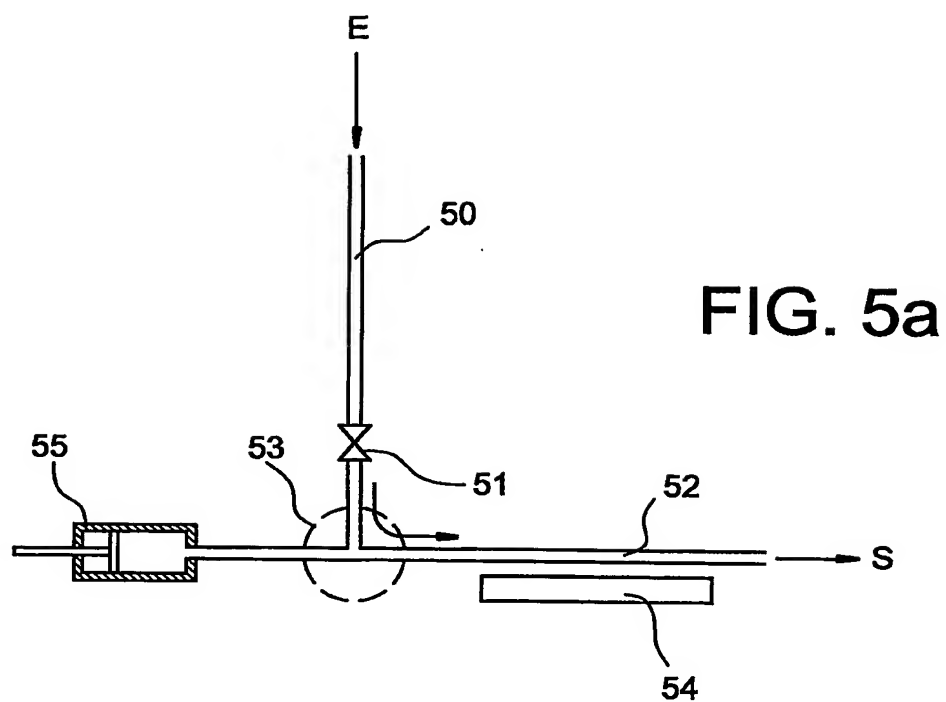


FIG. 3b

4 / 7



5 / 7



6 / 7

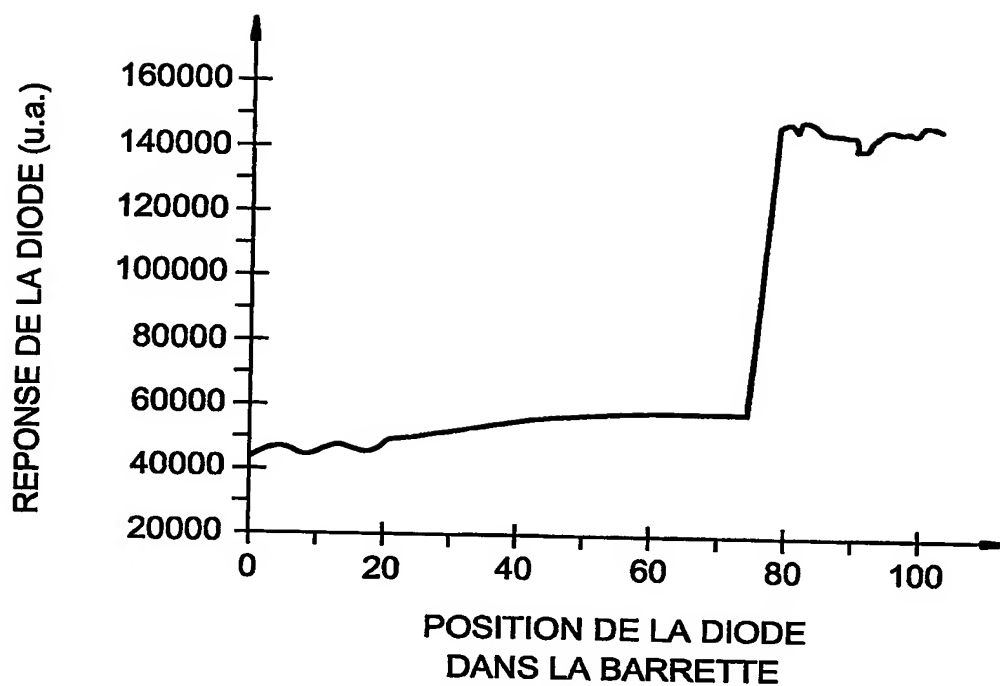


FIG. 6a

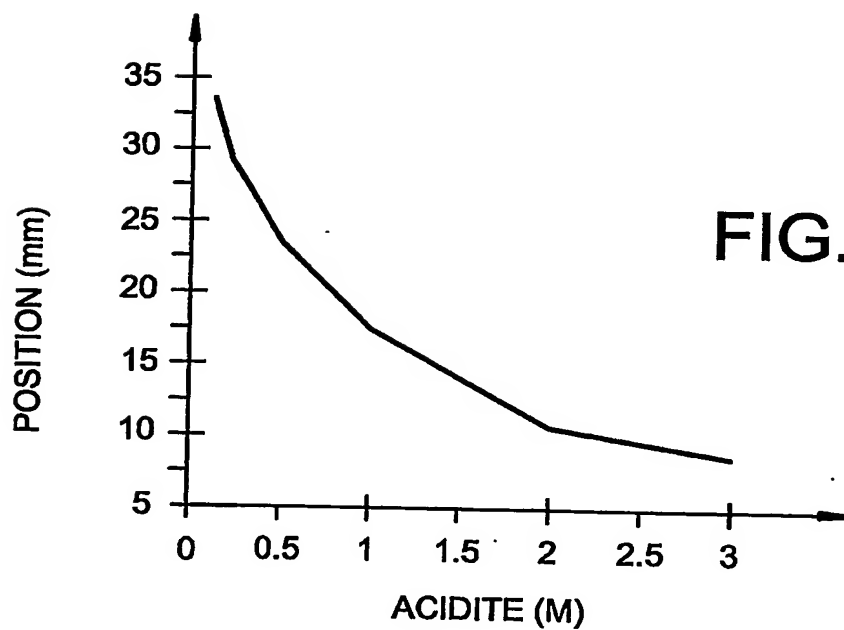


FIG. 6b

7 / 7

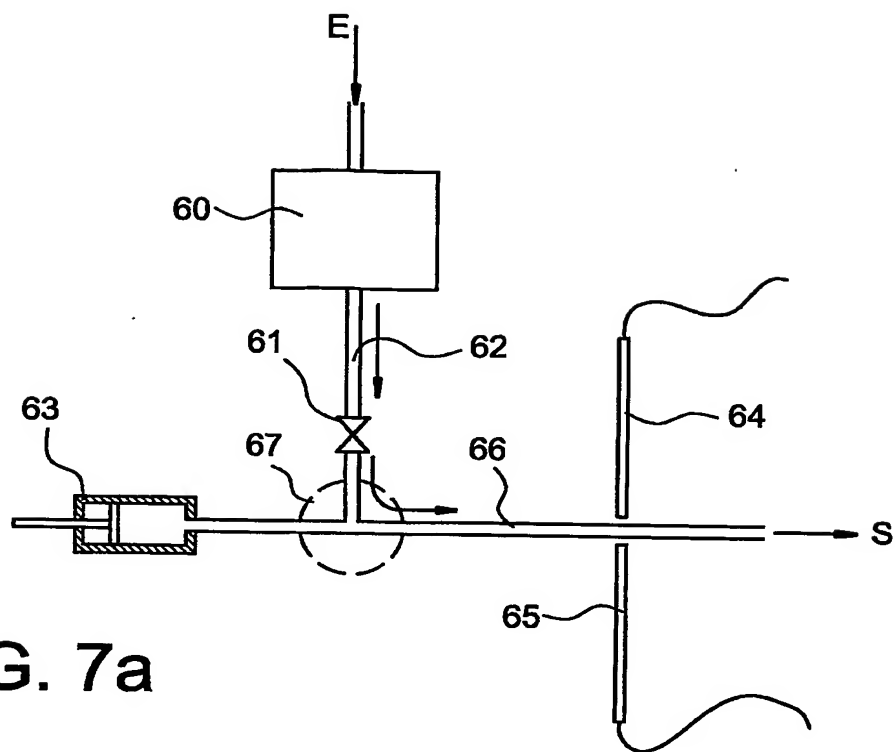


FIG. 7a

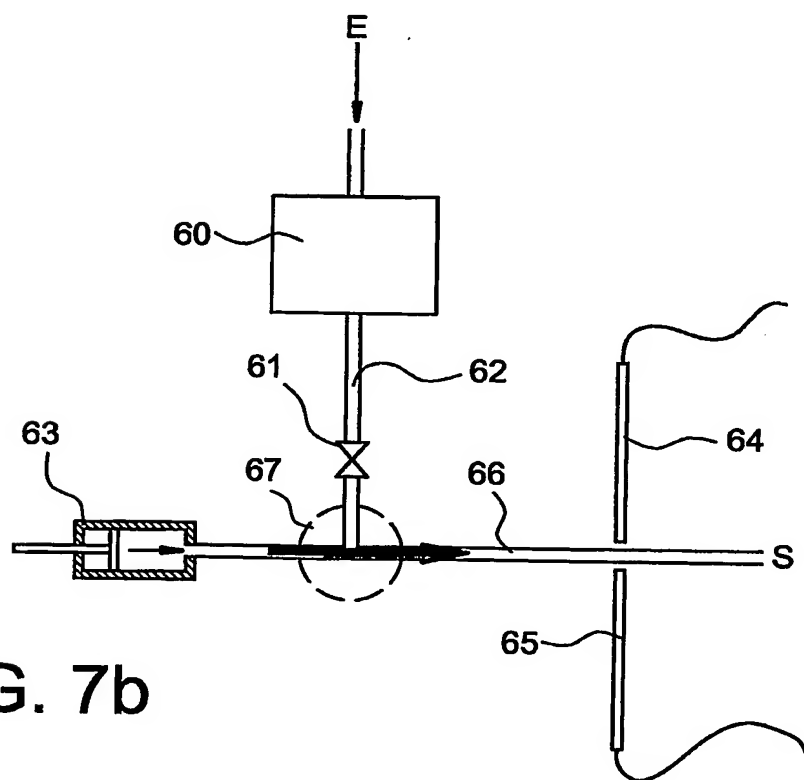


FIG. 7b

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/FR2004/050693

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 G01N1/00 G01N21/79

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 5 849 592 A (CAMPBELL DANIEL L ET AL) 15 December 1998 (1998-12-15) column 1, line 13 - column 1, line 19 column 2, line 51 - column 3, line 3 column 6, line 9 - column 6, line 34 lacking: transparent reaction coil, optical filterfigure 3 examples 3,6	1-10, 12-18
Y	GB 967 586 A (CLIFFORD CHARLES HACH) 26 August 1964 (1964-08-26) page 3, line 20 - page 3, line 48 page 4, line 11 - page 4, line 84 page 1, line 12 - page 1, line 77 page 2, line 20 - page 3, line 48 figures 1,2	1-10, 12-18
	----- -/-- -----	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *G* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

9 May 2005

Date of mailing of the international search report

20/05/2005

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Koch, A

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/FR2004/050693

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 4 399 225 A (HANSEN ELO H ET AL) 16 August 1983 (1983-08-16) column 2, line 33 - column 2, line 50 column 2, line 66 - column 3, line 16 -----	2
Y	US 5 252 486 A (O'LEAR CHRISTINA ET AL) 12 October 1993 (1993-10-12) column 5, line 19 - column 5, line 34 column 6, line 47 - column 6, line 61 column 12, line 3 - column 13, line 10 -----	7,8
Y	DE 197 36 641 A (WELLER MICHAEL G DR ; WINKLMAIR MICHAEL (DE); SCHUETZ ANDREAS (DE); NI) 11 March 1999 (1999-03-11) -----	9,10
A	page 3, line 30 - page 4, line 56 page 5, line 22 - page 5, line 28 example 5 figure 5 -----	3
A	US 6 075 312 A (WU ET AL) 13 June 2000 (2000-06-13) column 1, line 33 - column 1, line 49 column 3, line 15 - column 4, line 24 -----	11

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR2004/050693

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5849592	A	15-12-1998	AU 7598298 A CA 2290948 A1 EP 1015891 A1 JP 2002500765 T WO 9854579 A1	30-12-1998 03-12-1998 05-07-2000 08-01-2002 03-12-1998
GB 967586	A	26-08-1964	US 3186799 A	01-06-1965
US 4399225	A	16-08-1983	SE 418017 B DE 2923970 A1 FR 2432173 A1 GB 2023286 A , B JP 1604233 C JP 2020947 B JP 55029791 A SE 7806853 A US 4504443 A	27-04-1981 03-01-1980 22-02-1980 28-12-1979 22-04-1991 11-05-1990 03-03-1980 15-12-1979 12-03-1985
US 5252486	A	12-10-1993	AT 150869 T AU 655203 B2 AU 8582891 A CA 2053489 A1 DE 69125343 D1 DE 69125343 T2 EP 0486156 A2 JP 1971320 C JP 6027122 A JP 6097207 B US 5240681 A	15-04-1997 08-12-1994 16-04-1992 16-04-1992 30-04-1997 03-07-1997 20-05-1992 27-09-1995 04-02-1994 30-11-1994 31-08-1993
DE 19736641	A	11-03-1999	DE 19736641 A1	11-03-1999
US 6075312	A	13-06-2000	GB 2345966 A TW 388789 B TW 391522 Y DE 19911722 A1 FR 2776387 A1 JP 11326171 A	26-07-2000 01-05-2000 21-05-2000 23-09-1999 24-09-1999 26-11-1999

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No

PCT/FR2004/050693

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 7 G01N1/00 G01N21/79

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 G01N

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

EPO-Internal

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	US 5 849 592 A (CAMPBELL DANIEL L ET AL) 15 décembre 1998 (1998-12-15) colonne 1, ligne 13 - colonne 1, ligne 19 colonne 2, ligne 51 - colonne 3, ligne 3 colonne 6, ligne 9 - colonne 6, ligne 34 lacking: transparent reaction coil, optical filterfigure 3 exemples 3,6	1-10, 12-18
Y	GB 967 586 A (CLIFFORD CHARLES HACH) 26 août 1964 (1964-08-26) page 3, ligne 20 - page 3, ligne 48 page 4, ligne 11 - page 4, ligne 84 page 1, ligne 12 - page 1, ligne 77 page 2, ligne 20 - page 3, ligne 48 figures 1,2	1-10, 12-18

-/--

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- *A* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- *E* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- *L* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- *O* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- *P* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- *T* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- *X* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- *Y* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- *Z* document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

9 mai 2005

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

20/05/2005

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Koch, A

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No
PCT/FR2004/050693

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	US 4 399 225 A (HANSEN ELO H ET AL) 16 août 1983 (1983-08-16) colonne 2, ligne 33 - colonne 2, ligne 50 colonne 2, ligne 66 - colonne 3, ligne 16 -----	2
Y	US 5 252 486 A (O'LEAR CHRISTINA ET AL) 12 octobre 1993 (1993-10-12) colonne 5, ligne 19 - colonne 5, ligne 34 colonne 6, ligne 47 - colonne 6, ligne 61 colonne 12, ligne 3 - colonne 13, ligne 10 -----	7,8
Y	DE 197 36 641 A (WELLER MICHAEL G DR ; WINKLMAIR MICHAEL (DE); SCHUETZ ANDREAS (DE); NI) 11 mars 1999 (1999-03-11) -----	9,10
A	page 3, ligne 30 - page 4, ligne 56 page 5, ligne 22 - page 5, ligne 28 exemple 5 figure 5 -----	3
A	US 6 075 312 A (WU ET AL) 13 juin 2000 (2000-06-13) colonne 1, ligne 33 - colonne 1, ligne 49 colonne 3, ligne 15 - colonne 4, ligne 24 -----	11

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale No

PCT/FR2004/050693

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
US 5849592	A	15-12-1998	AU 7598298 A	30-12-1998
			CA 2290948 A1	03-12-1998
			EP 1015891 A1	05-07-2000
			JP 2002500765 T	08-01-2002
			WO 9854579 A1	03-12-1998
GB 967586	A	26-08-1964	US 3186799 A	01-06-1965
US 4399225	A	16-08-1983	SE 418017 B	27-04-1981
			DE 2923970 A1	03-01-1980
			FR 2432173 A1	22-02-1980
			GB 2023286 A , B	28-12-1979
			JP 1604233 C	22-04-1991
			JP 2020947 B	11-05-1990
			JP 55029791 A	03-03-1980
			SE 7806853 A	15-12-1979
			US 4504443 A	12-03-1985
US 5252486	A	12-10-1993	AT 150869 T	15-04-1997
			AU 655203 B2	08-12-1994
			AU 8582891 A	16-04-1992
			CA 2053489 A1	16-04-1992
			DE 69125343 D1	30-04-1997
			DE 69125343 T2	03-07-1997
			EP 0486156 A2	20-05-1992
			JP 1971320 C	27-09-1995
			JP 6027122 A	04-02-1994
			JP 6097207 B	30-11-1994
			US 5240681 A	31-08-1993
DE 19736641	A	11-03-1999	DE 19736641 A1	11-03-1999
US 6075312	A	13-06-2000	GB 2345966 A	26-07-2000
			TW 388789 B	01-05-2000
			TW 391522 Y	21-05-2000
			DE 19911722 A1	23-09-1999
			FR 2776387 A1	24-09-1999
			JP 11326171 A	26-11-1999